



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

PENENTUAN UMUR EMBRIO TERMUDA DALAM UPAYA PENYELAMATAN JENIS MANGGA (MANAGIFERA SP.)

SKRIPSI



**ERLIANA BR. SITEPU
05112028**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

**PENENTUAN UMUR EMBRIO TERMUDA
DALAM UPAYA PENYELAMATAN EMBRIO
BEBERAPA JENIS MANGGA (*Mangifera* sp.)**

OLEH:

**ERLIANA BR. SITEPU
05112028**

SKRIPSI

**SEBAGAI SALAH SATU SYARAT
UNTUK MEMPEROLEH GELAR
SARJANA PERTANIAN**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

**PENENTUAN UMUR EMBRIO TERMUDA
DALAM UPAYA PENYELAMATAN EMBRIO
BEBERAPA JENIS MANGGA (*Mangifera* sp.)**

OLEH:

**ERLIANA BR. SITEPU
05112028**

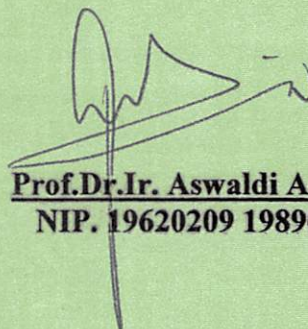
MENYETUJUI

Dosen Pembimbing I



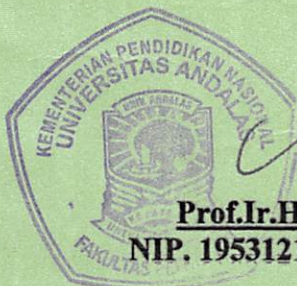

**Ir. Sutoyo, MS
NIP. 19590902 198403 1 002**

Dosen Pembimbing II



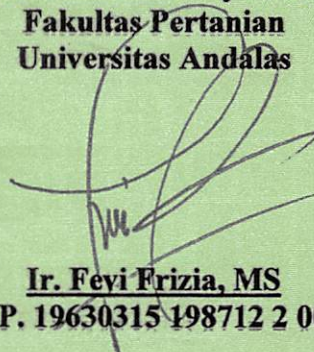
**Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS
NIP. 19620209 198903 1 002**

**Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**



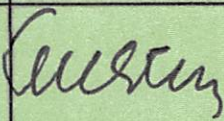

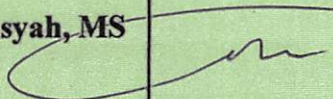
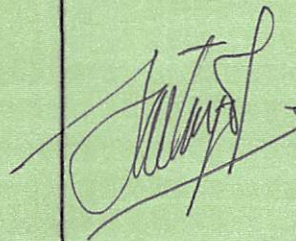
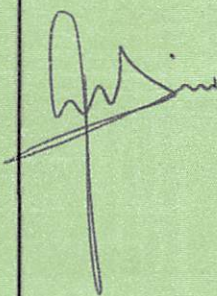
**Prof. Ir. H. Ardi, MSc
NIP. 19531216 198003 1 004**

**Ketua Jurusan Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**



**Ir. Fevi Frizia, MS
NIP. 19630315 198712 2 001**

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Sidang Panitia Ujian Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Andalas, pada tanggal 30 Desember 2010

No.	Nama	Tanda Tangan	Jabatan
1.	Dr.Ir. Gustian, MS		Ketua
2.	Dini Hervani, SP, MSi		Sekretaris
3.	Prof.Dr.Ir.Irfan Suliansyah, MS		Anggota
4.	Ir. Sutoyo, MS		Anggota
5.	Prof.Dr.Ir.Aswaldi Anwar, MS		Anggota



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Skripsi ini dipersembahkan sebagai tanda baktiku kepada:
Ayahanda Rasmin Sitepu, SP dan ibunda Almi Mariani hinti Sukimin*

Terimakasih kuucapkan kepada:

Ayahku sayang, terimakasih atas doa dan semangat yang telah diberikan. Pengorbanan serta kasih sayang yang tak terhitung dan tak terhitung banyaknya.

Bundaku sayang, rasa cinta dan rinduku padamu begitu dalam... Banyak kisah yang telah kita lalui bersama, namun sejuta asa belum terwujud sepenuhnya.

Kakak-kakakku tersayang, Henri Tata Sitepu, SSI, Deni Antha Sitepu, Sri Ramadhani Sitepu, Amd, Elhina Sariantia Sembiring, Amd dan pamakan tersayang Devit Rizky Bastanta Sitepu yang telah memberi semangat dan kasih sayang.

Bapak dan ibu dosen yang baik dan sabar dalam mendidik, memberikan motivasi dan bekal ilmu yang sangat berharga.

Teman-teman seperjuangan di Jurusan Budidaya Pertanian, terima kasih atas kerja sama, kebersamaan dan kenangan cuka duka yang tak terlupakan yang menjadi pelajaran dalam hidupku...

Thank you for all my friends, with such huge ears to listen to my endless complaints...

BIODATA

Penulis dilahirkan di Berastagi, Sumatera Utara pada tanggal 25 April 1987 sebagai anak keempat dari pasangan Rasmin Sitepu, SP dan Almh. Mariani binti Sukimin. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) ditempuh di SD Swasta Methodist Berastagi (1993-1999). Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama (SLTP) ditempuh di SLTPN 1 Berastagi, lulus tahun 2002. Sekolah Menengah Umum (SMU) ditempuh di SMUN 1 Berastagi, lulus pada tahun 2005. Pada tahun 2005 penulis diterima di Fakultas Pertanian Universitas Andalas Program Studi Pemuliaan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian.

Padang, Januari 2011

Erliana Sitepu

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis sampaikan kehadiran Allah SWT., atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulisan skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian **“Penentuan Umur Embrio Termuda Dalam Upaya Penyelamatan Embrio Beberapa Jenis Mangga (*Mangifera* sp.)”** dari mata kuliah Kultur Jaringan Tanaman, Program Studi Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian. Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret sampai dengan Juni 2010 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang setulusnya kepada Bapak Ir. Sutoyo, MS dan Bapak Prof.Dr.Ir. Aswaldi Anwar, MS selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberi petunjuk, saran dan pengarahan dari penyusunan proposal, dalam penelitian sampai penyusunan skripsi. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Ketua dan Sekretaris Jurusan Budidaya Pertanian, seluruh dosen, karyawan Fakultas Pertanian yang telah memberi dorongan, semangat dan bantuan yang berharga selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Penghormatan dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada kedua orang tua yang telah memberi semangat, dorongan dan doa kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi tepat pada waktunya.

Harapan penulis semoga skripsi ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan umumnya dan ilmu pertanian khususnya.

Padang, Januari 2011

E.S

DAFTAR ISI

	<u>Halaman</u>
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK ..	xiii
ABSTRACT	xiv
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Tanaman Mangga	3
2.1.1 Pembungaan dan Pembentukan Buah	3
2.1.2 Perkembangan Bunga Mangga	4
2.1.3 Perkembangan Embrio	5
2.2 Kerontokan Buah	6
2.3 Kultur Embrio	7
2.3.1 Teknik Kultur Embrio	8
2.3.2 Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Embrio	8
2.3.3 Tujuan Kultur Embrio	9
2.4 Peranan Kinetin dalam Kultur Jaringan	9
III. BAHAN DAN METODE	11
3.1 Tempat dan Waktu	11
3.2 Bahan dan Alat	11
3.3 Metodologi	11
3.4 Pelaksanaan Penelitian	11
3.4.1 Sterilisasi Alat	11
3.4.2 Pembuatan Media	12
3.4.3 Penyerbukan dan Eksplan yang Digunakan	12
3.4.4 Penanaman Eksplan	13
	viii

3.4.5 Inkubasi di Ruang Gelap	14
3.4.6 Pemeliharaan	14
3.5 Pengamatan	15
3.5.1 Persentase Keberhasilan Penyerbukan	15
3.5.2 Persentase Keberhasilan Isolasi Embrio	15
3.5.3 Perkembangan Embrio	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Persentase Keberhasilan Penyerbukan	16
4.2 Persentase Keberhasilan Isolasi Embrio	18
4.2.1 Penanaman <i>Fruit Set</i> Muda	18
4.2.2 Penanaman Embrio Muda	19
4.2.3 Penanaman Berdasarkan Ukuran <i>Fruit Set</i>	20
4.2.4 Penanaman Embrio	21
4.3 Poliembrioni	22
4.3.1 Perkembangan Embrio	23
V. KESIMPULAN DAN SARAN	27
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	31

DAFTAR TABEL

<u>Tabel</u>	<u>Halaman</u>
1. Persentase keberhasilan pembentukan <i>fruit set</i> mangga Kelapa (Daerah: Perumahan Gadut)	16
2. Pembentukan <i>fruit set</i>	18
3. Keberhasilan isolasi embrio	21
4. Perkembangan embrio dari awal pengkulturan hingga 8 minggu setelah pengkulturan	24

DAFTAR GAMBAR

<u>Gambar</u>	<u>Halaman</u>
1. Biji mangga monoembrioni mengandung satu embrio sejati dan biji mangga poliembrioni mengandung banyak embrio	6
2. Ukuran <i>fruit set</i> yang digunakan pada penanaman <i>fruit set</i> muda dan penanaman embrio muda	13
3. Ukuran <i>fruit set</i> yang digunakan pada penanaman berdasarkan <i>fruit set</i> dan penanaman embrio	14
4. Serangan <i>D. dorsalis</i> pada <i>fruit set</i>	17
5. Perkembangan eksplan yang berasal dari <i>fruit set</i> muda .	19
6. Perubahan warna pada eksplan	20
7. Perubahan kondisi eksplan pada penanaman embrio.....	22
8. Struktur embrio mangga yang bersifat poliembrioni	22
9. Embrio 4 MSP pada minggu ke- 8 pengkulturan.....	25

DAFTAR LAMPIRAN

<u>Lampiran</u>	<u>Halaman</u>
1. Jadwal Kegiatan dari bulan Maret-Juni 2010.....	31
2. Komposisi Nutrisi Media Dasar B5	32

PENENTUAN UMUR EMBRIO TERMUDA DALAM UPAYA PENYELAMATAN EMBRIO BEBERAPA JENIS MANGGA (*Mangifera* sp.)

ABSTRAK

Penelitian telah dilaksanakan dari bulan Maret sampai Juni 2010 di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang. Penelitian ini bertujuan untuk mencari umur termuda embrio mangga yang dapat diselamatkan melalui kultur embrio. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pentil mangga yang berumur kira-kira 3 dan 4 minggu setelah penyerbukan mampu berkecambah dan tumbuh pada media B5 + 1 mg Kinetin/L. Perkembangan embrio dimulai dengan pecahnya poliembrio pada minggu pertama, perkembangan radikel pada minggu kedua, pembentukan klorofil pada minggu ketiga, warna hijau terlihat jelas pada minggu keempat dan minggu kelima hingga minggu kedelapan embrio tidak menunjukkan perkembangan yang berarti.

THE DETERMINATION OF EARLIEST EMBRYO STAGE FOR EMBRYO RESCUE AT SOME KIND OF MANGOES (*Mangifera* sp.)

ABSTRACT

The experiment was conducted from March to June 2010 at Plant Tissue Culture Laboratory, Agronomy Department, Agriculture Faculty, Andalas University, Padang. The purpose of this experiment is to determine earliest age of embryo which can be saved by embryo culture. The result showed that embryo taken from 3 to 4 weeks of fruit-sets which have been pollinated before, able to sprout up and grow on B5 + 1 mg Kinetin/L. Development of embryo was began with polyembryo smashing on the first week, radicle development on the second week, chlorophyll formulation on the third week, green color can be seen on the fourth week clearly and the fifth to eight week can be seen no significant development of embryo.

I. PENDAHULUAN

Mangga (*Mangifera* sp.) merupakan tanaman tahunan yang banyak dibudidayakan dalam kapasitas perkebunan atau tanaman pekarangan. Rendahnya proses pembentukan buah dan tingginya gugur buah yang hampir mencapai 99%, menjadi masalah utama dalam hibridisasi. Pembentukan buah dari sejumlah bunga pada mangga hanya mencapai 2,7%. Persentase ini terus menurun sesuai fase perkembangan buah, sehingga akhirnya hanya tinggal 0,3% saja yang masak panen (Purnomo 1986 *cit* Ishartati dan Husen 2007). Hal tersebut dikarenakan bahwa untuk mendapatkan biji mangga, seorang pemulia tanaman harus melakukan persilangan yang luar biasa banyaknya. Sebagai ilustrasi, seorang pemulia tanaman harus menyilangkan sebanyak 300 persilangan hanya untuk mendapatkan satu biji mangga.

Pada mangga, tingkat pembentukan embrio pada umumnya sangat tinggi, tetapi gagal berkembang sampai dewasa, sehingga perlu metode untuk menyelamatkan embrio hasil persilangan. Sampai saat ini terdapat beberapa penelitian yang melaporkan keberhasilan kultur embrio mangga. Zarkasi (2005) mengkulturkan embrio mangga pada media B5 dengan penambahan berbagai konsentrasi air kelapa dan *Casein Hydrolysate*, sementara itu Saidah (2005) pada media B5 dengan penambahan berbagai konsentrasi sukrosa dan Kinetin, kemudian Karsinah, Triatminingsih dan Rebin (2007) mengkulturkan embrio hasil persilangan mangga pada media B5 dengan penambahan berbagai konsentrasi Kinetin dan Husen (2008) pada media B5 dengan penambahan berbagai konsentrasi sukrosa dan Benzil Amino Purin. Akan tetapi, belum diketahui kapan waktu paling cepat embrio tersebut mulai dapat diselamatkan secara *in vitro*.

Hakim (2009) menyatakan bahwa umur eksplan sangat berpengaruh terhadap kemampuan eksplan tersebut untuk tumbuh dan beregenerasi. Dalam hal ini, semakin cepat embrio tersebut dapat diselamatkan, maka akan semakin banyak embrio yang mungkin diperoleh. Hal ini dikarenakan bahwa semakin lama jarak waktu antara pembuahan dan perkembangan embrio, maka semakin besar peluang embrio akan gugur. Keberhasilan teknik kultur embrio ditentukan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah umur embrio yang dikulturkan.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis telah melakukan penelitian yang berjudul **“Penentuan Umur Embrio Termuda Dalam Upaya Penyelamatan Embrio Beberapa Jenis Mangga (*Mangifera* sp.)”**. Penelitian ini bertujuan untuk mencari umur termuda embrio mangga yang dapat diselamatkan melalui kultur embrio.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Mangga

Mangga termasuk famili *Anarcardiaceae*, terdiri dari 64 genera dan beberapa di antaranya sudah dibudidayakan. Mangga diperkirakan berasal dari daerah tropis Asia. Genus asli *Mangifera* berasal dari daerah tropis Asia dan jumlah spesies terbanyak ditemukan di Borneo, Jawa, Sumatera dan Malay Peninsula (Bally, 2006). Beberapa peneliti menyatakan bahwa mangga yang dibudidayakan dalam bentuk pekarangan berasal dari Malaya, tetapi di wilayah ini tidak ditemukan mangga liar, sedangkan nama mangga di wilayah ini berasal dari bahasa Tamil. Hal ini memperkuat dugaan bahwa asal mangga dari Indo-Burma, sedangkan perkembangan distribusi geografi spesiesnya paling banyak di kepulauan Malaysia (Mukherjee, 1949; Singh, 1969 *cit* Purnomo, 1992).

Masalah yang muncul dalam pengembangan mangga di Indonesia antara lain adalah masa juvenil yang panjang, tingginya tingkat heterosigositas akibat persilangan terbuka, hanya satu biji perbuah, tingginya gugur buah yang menyulitkan proses hibridisasi, adanya sifat poliembrioni dari beberapa kultivar dan sistem penanganan pra dan pascapanen di tingkat petani belum memadai (Baswarsiati dan Yuniarti, 2007).

2.1.1 Pembungaan dan Pembentukan Buah

Bunga mangga yang berbentuk malai terbentuk dari ranting terminal, terdiri atas beberapa ribu individu bunga. Dalam satu malai terdapat bunga hermaprodit dan bunga jantan dengan proporsi 1:4 sampai 1:2 (Oche, Soule, Djikman dan Werburg, 1961 *cit* Ihsan dan Sukarmin, 2008). Bunga hermaprodit memiliki panjang 5-10 mm, mempunyai bakal buah bulat serta putik. Pada bunga jantan tidak terdapat putik. Biasanya terdapat 1-3 benang sari yang subur, sedangkan benang sari lainnya steril. Kelopak bunganya berwarna hijau kekuningan berjumlah 3-9, tetapi biasanya 5. Mahkotanya berwarna krem yang berubah menjadi merah muda bila akan rontok. Pada bunga sempurna, cairan nektar terletak pada suatu piringan yang mengelilingi bakal buah, sedangkan benang sari terletak di luar pinggiran ini. Putik dan benang sari hampir sama

panjang, sehingga serangga dapat memindahkan tepung sari pada putik dari bunga yang sama (Bally, 2006; Brummitt, 2008; Ashari 1995 *cit* Suwarno, 2008). Reseptivitas stigma dapat mencapai 7 jam, namun reseptivitas yang paling baik kira-kira 6 jam dan stigma reseptif dapat terjadi sebelum antesis (Singh, 1969 *cit* Purnomo, 1992). Bunga mangga terbuka pada pagi hari, kepala putik segera berfungsi pada saat bunga mekar, tepung sari biasanya disebarkan antara pukul 8.00 hingga siang. Ketika bunga membuka, nektar diproduksi sehingga dapat menarik perhatian serangga lewat warna bunga ataupun bau nektar (Ashari, 1995 *cit* Suwarno, 2008).

Buah terbentuk 12-13 hari setelah penyerbukan. Pola perkembangan buah tampaknya berbentuk sigmoid. Rata-rata bobot buah bertambah sangat lambat sejak penyerbukan bunga sempurna hingga berumur 28-35 hari setelah penyerbukan (HSP). Bobot buah bertambah sangat cepat sejalan dengan peningkatan bobot biji yang dimulai pada saat pembentukan biji hingga keadaan biji mulai kering. Kemudian laju bobot buah tetap sampai pada dipetik (Purnomo, 1992). Bunga mangga biasanya akan tetap berkembang menjadi pentil (*fruit set*) meskipun tidak diserbuki. *Fruit set* yang demikian akan gugur dan tidak mampu membentuk buah karena tidak dapat membentuk biji (Ihsan dan Sukarmin, 2008).

2.1.2 Perkembangan Bunga Mangga

Ranting pohon mangga tidak berbunga tiap tahun. Pada umumnya ranting yang berbunga pada saat sekarang, tidak akan berbunga pada tahun berikutnya, kecuali adanya rangsangan lingkungan yang menguntungkan (Purnomo, 1987 *cit* Purnomo, 1992). Pembungaaan mangga terjadi selama kondisi terdingin setiap tahun. Pembungaan membutuhkan dormansi pucuk 4-6 minggu dan suhu malam yang dingin untuk memacu pembungaan dari ujung ranting (Brummitt, 2008). Rentang waktu dari awal hingga akhir pembentukan kuncup malai pada satu pohon terjadi selama 7 hari. Periode kuncup hingga terbentuk malai membutuhkan 20-24 hari. Keadaan ini menunjukkan bahwa mekar bunga dalam satu malai tidak serempak, mengikuti terbentuknya kuncup bunga dalam perkembangan malai bunga. Kuncup bunga mekar sampai dengan siap dilakukan penyerbukan membutuhkan waktu 3-4 hari. Dalam satu dompol anak malai, bunga sempurna

mekar lebih awal, selang 2-3 hari disusul mekarnya bunga jantan. Akibatnya, pada saat jumlah bunga jantan mencapai maksimal dalam suatu perkembangan bunga, sementara itu bunga sempurna sudah banyak yang gugur. Atau sebaliknya, bunga jantan sudah banyak yang gugur ketika bunga sempurna pada malai bagian ujung mekar penuh. Hal terakhir ini terjadi oleh karena proporsi bunga jantan lebih banyak terdapat pada pangkal malai bunga daripada bagian pucuk malai (Purnomo, 1992).

Perkembangan bunga beberapa varietas membutuhkan waktu 10 hari setelah terbukanya tunas bunga. Ada beberapa varietas yang lain membutuhkan waktu 2-4 minggu. Periode mekar bunga untuk beberapa varietas mangga di Jawa 11-29 hari (Bijhouwer, 1937 *cit* Purnomo, 1992).

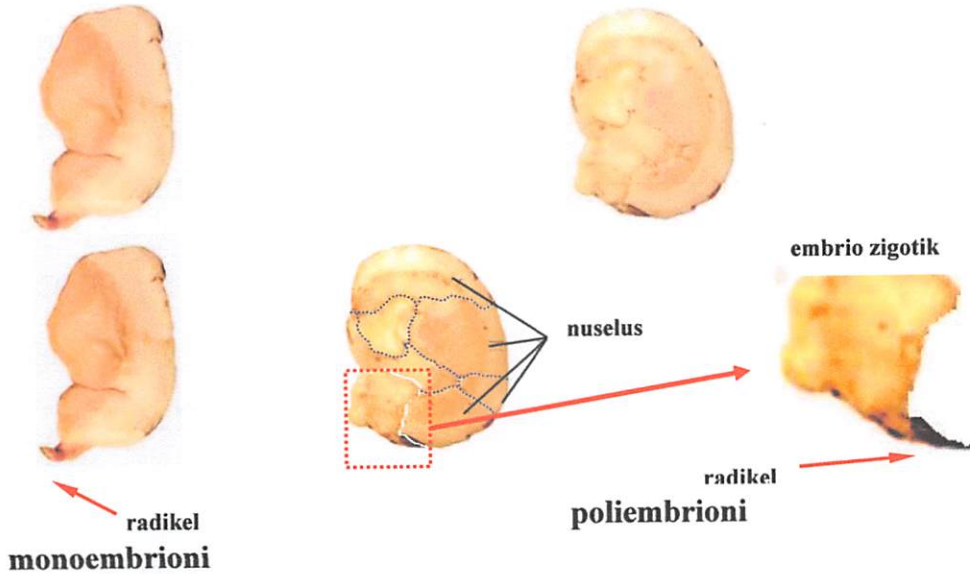
2.1.3 Perkembangan Embrio

Persilangan pada tanaman mangga merupakan proses penggabungan sifat melalui pertemuan polen dengan stigma. Ditinjau dari segi ilmu tumbuhan, embrio tidak lain adalah suatu tumbuhan kecil (*miniature plant*). Setelah selesai pembuahan, maka sel telur berubah menjadi zigot yang diploid. Melalui pembelahan sel, zigot ini akan menjadi pro-embrio dan kemudian menjadi embrio matang yang diploid (Kamil, 1979).

Perkembangan embrio tumbuhan dimulai setelah *double fertilization* dan membentuk embrio dan jaringan nutrisi, yaitu endosperma. Secara skematis, embriogenesis dapat dibagi menjadi tiga fase. Fase pertama dicirikan dengan pembentukan morfogenesis dan diferensiasi dari jaringan dasar. Fase kedua ditandai dengan akumulasi hasil penyimpanan dan selama fase terakhir benih mengalami dehidrasi dan memasuki masa dormansi (Jurgens, 1995 *cit* Matthys-Rochon, Piola, Le Deunff, Møl dan Dumas, 1998).

Biji mangga dikelompokkan menjadi monoembrioni dan poliembrioni, dapat dilihat pada Gambar 1. Pada biji monoembrioni mengandung hanya satu embrio dari hasil persilangan. Kultivar mangga di India dan Brazil adalah monoembrioni, misalnya Coracao de Boi, Bombay Green, Irwin, Tommy dan Atkins (Purnomo, 1992), sedangkan biji poliembrioni mengandung banyak embrio, yang kebanyakan adalah aseksual dan secara genetis identik dengan

induknya. Biji poliembryoni ini juga mengandung embrio zigotik hasil penyerbukan (Bally, 2006). Kebanyakan kultivar mangga di Indonesia adalah poliembryoni, misalnya mangga Golek, Gedong dan Arumanis (Purnomo, 1992).



Gambar 1. Biji mangga monoembryoni mengandung satu embrio sejati dan biji mangga poliembryoni mengandung banyak embrio (Bally, 2006)

Buah dari perkecambahan monoembryoni akan sering berbeda dari pohon tetua, sehingga perbanyakan melalui grafting digunakan untuk menghasilkan tipe pohon monoembryoni. Perkecambahan benih monoembryoni biasanya memiliki vigor yang rendah dibandingkan perkecambahan dari nuselus. Pada beberapa varietas, hal ini merupakan kebalikan bahwa perkecambahan zigotik adalah lebih vigor (Bally, 2006).

2.2 Kerontokan Buah

Salah satu kendala yang dihadapi pada pengusahaan tanaman mangga adalah tingkat kerontokan buah yang sangat tinggi. Faktor kerontokan ini di antaranya adalah karena pengaruh lingkungan, seperti hujan dan serangan penyakit. Purnomo (1987) *cit* Tegopati, Prahardini dan Purnomo (1991); Ishartati dan Husen (2007); Sawke, Ramtake dan Deshmukh (1990) *cit* Krishna dan Singh (2007), menyatakan bahwa gugurnya buah setelah terjadinya penyerbukan

disebabkan oleh adanya persaingan terhadap cadangan makanan, kondisi *stress*, faktor iklim seperti temperatur tinggi, hujan selama pembungaan, hujan disertai angin, angin kencang ataupun serangan hama dan penyakit.

Ishartati dan Husen (2007) menyatakan bahwa fase gugur buah tertinggi pada saat pembentukan buah sekitar 21-42 hari setelah polinasi. Hal ini disebabkan oleh gangguan persarian, kelamin jantan tidak kompatibel dengan kelamin betinanya, fertilitas polen atau reseptifitas stigma rendah sehingga mengganggu pembentukan dan perkembangan biji. Sementara itu, Ihsan dan Sukarmin (2008) menyatakan bahwa banyaknya hasil silangan mangga Arumanis dengan mangga yang berkulit merah yang dapat dipanen adalah hanya sebesar 7,9% pada 2 minggu setelah persilangan. Tetapi Singh, Majumder dan Sharma (1978) *cit* Ishartati dan Husen (2007) meneliti beberapa kultivar mangga di India, hanya 13-28% bunga hermaphrodit mempunyai kecenderungan membentuk buah setelah polinasi. Persentase ini terus menurun sehingga 0,1-0,25% saja yang mencapai kematangan.

2.3 Kultur Embrio

Kondisi *in vitro* dan aseptik merupakan persyaratan utama yang harus dipenuhi dalam budidaya secara kultur jaringan. Gunawan (1988) dan Jamsari (2008) menjelaskan bahwa teknik kultur jaringan yang dapat mengatasi masalah pengguguran embrio yang disebabkan oleh inkompatibilitas adalah kultur embrio. Aplikasi kultur embrio lainnya adalah mengatasi dormansi biji dan sterilitas dari biji, *embryo rescue*, produksi monohaploid dan mempersingkat siklus pemuliaan. Selanjutnya ditambahkan Gunawan (1988) bahwa kultur embrio ditujukan untuk membantu perkecambahan embrio menjadi tanaman lengkap. Masalah inkompatibel post zigotik yang diatasi dengan kultur embrio dikenal dengan *embryo rescue*.

Pelaksanaan kultur embrio mangga sudah pernah dilaksanakan diantaranya adalah Karsinah, Triatminingsih dan Rebin (2007) menyatakan bahwa media B5 dengan penambahan 1 mg Kinetin merupakan media terbaik untuk perkembangan embrio zigotik hasil persilangan mangga Arumanis 143 dengan Cukurgondang, dengan persentase keberhasilan 90%, sedangkan untuk perkembangan tunas

tertinggi hingga 8,33 cm ditunjukkan pada media B5 + 3 mg Kinetin. Pengamatan penelitian ini dilakukan hingga 12 minggu setelah pengkulturan.

2.3.1 Teknik Kultur Embrio

Teknik kultur embrio meliputi tiga tahapan, yaitu sterilisasi eksplan, isolasi dan penanaman embrio dan aklimatisasi. Embrio pada prinsipnya berada dalam keadaan steril dan bebas dari mikroorganisme, karena embrio berada di dalam buah, sterilisasi dapat dilakukan dengan pembakaran buah/biji atau dengan sterilan kimia seperti *Sodium Hypochlorite* dengan konsentrasi cukup tinggi (>2%). Isolasi harus dilakukan secara hati-hati agar embrio tidak rusak dan kehilangan salah satu atau lebih bagian-bagiannya. Embrio yang telah diisolasi tersebut langsung ditanam di dalam botol kultur, tanpa melalui proses sterilisasi (Muslim, 2010; Bustamam, Rozen dan Kurniawan, 2004). Teknik aklimatisasi untuk plantlet hasil regenerasi kultur embrio pada prinsipnya sama dengan aklimatisasi plantlet hasil regenerasi dari teknik kultur jaringan lainnya (Muslim, 2010).

2.3.2 Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Embrio

Salah satu faktor yang sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan embrio adalah genotip tanaman asal eksplan yang diisolasi. Perbedaan respon genotip tanaman tersebut dapat diamati pada perbedaan eksplan masing-masing varietas untuk tumbuh dan beregenerasi. Tingkat perkembangan embrio pada waktu dipisahkan merupakan hal penting penunjang keberhasilan kultur embrio. Embrio yang lebih kecil lebih sulit dikulturkan daripada embrio yang lebih dulu berkembang. Untuk pengkulturan embrio tersebut, komposisi media harus mengandung unsur makro, mikro dan gula. Faktor penting lainnya adalah Oksigen yang tidak kalah pentingnya mempengaruhi keberhasilan kultur embrio, kemudian cahaya dan temperatur juga dibutuhkan untuk perkembangan embrio (Gunawan, 1988; Hakim, 2010; Herdaryono dan Wijayani, 1994 dan Kosmiatin dan Mariska, 2005). Kadang-kadang embrio memerlukan tempat gelap kira-kira 14-30 hari, setelah itu dipindahkan ke tempat terang untuk pembentukan klorofil (George dan Sherrington, 1984).

2.3.3 Tujuan Kultur Embrio

Kultur embrio dimaksudkan untuk memisahkan embrio yang belum dewasa dan menumbuhkannya secara kultur jaringan untuk mendapatkan tanaman yang viabel. Dengan metode kultur embrio, siklus *inbreeding* dapat dipersingkat, seperti pengkulturan embrio pinang sirih (Bustamam *et al.*, 2004), kecepatan viabilitas biji dapat diuji secara lebih nyata dan interpretasi yang jelas, pada kultur embrio spesies tanaman rekalsitran (Chin *et al.*, 1988), dapat memperbanyak tanaman langka misalnya kopyor dan memperoleh hibrid yang langka (Herdaryono dan Wijayani, 1994), pada persilangan tanaman kedelai dengan kerabat jauh (Ilyas, 2005) dan persilangan kacang hijau dengan kacang hitam (Kosmiatin dan Mariska, 2005).

Pemuliaan tanaman terjadi melalui hibridisasi dan seleksi. Dengan menyilangkan tanaman, pemulia berusaha untuk menggabungkan karakter terbaik dari 2 tanaman yang berbeda. Melalui seleksi, pemulia mencoba untuk menyeleksi anakan yang memiliki kombinasi kualitas yang optimal dari kedua tanaman induk. Proses ini tentu saja sangat tergantung pada produksi benih viabel. Jika benih viabel tidak terbentuk, tidak akan ada keturunan yang akan diseleksi. Tidak ada anakan tidak berarti fertilisasi tidak terjadi setelah polinasi. Kemungkinan terjadi keguguran embrio pada fase dini perkembangan biji, akibat penyebab yang tidak diketahui. Dengan teknik kultur jaringan, embrio yang belum matang ini dapat diselamatkan (Unud, 2008).

2.4 Peranan Kinetin dalam Kultur Jaringan

Bentuk dasar dari Sitokinin adalah Adenin (6-Amino Purin). Adenin merupakan bentuk dasar yang menentukan terhadap aktivitas Sitokinin. Di dalam senyawa Sitokinin, panjang rantai dan hadirnya suatu *double bond* dalam rantai tersebut, akan meningkatkan aktivitas zat pengatur tumbuh ini (Abidin, 1985 *cit* Fitrianti, 2006). Salah satu Sitokinin sintetik yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memacu pembelahan sel adalah Kinetin.

George dan Sherrington (1984), menyebutkan bahwa Sitokinin adalah kelompok zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam pengaturan pertumbuhan dan morfogenesis pada kultur *in vitro*. Hal ini didukung oleh

pernyataan Wattimena (1988) bahwa Sitokinin menyebabkan peningkatan pembelahan sel yaitu dalam proses sitokinesis terutama saat sintesis RNA dan sintesis protein. Menurut Gunawan (1987), golongan Sitokinin yang sering ditambahkan adalah Kinetin, Zeatin dan Benzilaminopurin (BAP).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Andalas Padang, yang dimulai pada bulan Maret sampai Juni 2010. Jadwal kegiatan penelitian pada Lampiran 1.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *fruit set* mangga, media B5; zat kimia penyusun pada Lampiran 2, Kinetin, NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, alkohol 70%, bayclin (bahan aktif NaOCl), sukrosa, aquades, agar, plastik wrap, selotip bening, *tissue*, kertas label dan deterjen. Adapun peralatan yang digunakan adalah *autoclave*, *laminar air flow cabinet (L AFC)*, lemari es, kompor gas, pH meter, *stirrer*, *hot plate magnetic*, oven, botol kultur, rak kultur yang dilengkapi lampu *fluorescence* sebagai sumber penyorotan, *hand sprayer*, pisau, gunting kecil, *scalpel*, cawan petri, pinset, *erlenmeyer*, gelas ukur, lampu spritus, pengaduk gelas, alat tulis dan ruang inkubasi.

3.3 Metodologi

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif yaitu pengambilan sampel secara sengaja (*purposive sampling*) dengan mengumpulkan calon buah (*fruit set*) mangga. *Fruit set* tersebut dipetik pada perlakuan hari setelah penyerbukan. Melalui metode ini penulis akan mendeskripsikan perkembangan embrio dari *fruit set* tersebut secara visual melalui kultur penyelamatan embrio.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat seperti cawan petri, pisau, botol kultur, *scalpel* dan peralatan lainnya dicuci dengan deterjen dan dibilas hingga bersih, selanjutnya direndam dalam larutan Natrium Hipoklorit selama 24 jam, kemudian disterilisasi dalam

autoclave pada tekanan 15 psi dengan suhu 121°C selama 30 menit. Alat-alat selain botol, dibungkus dengan kertas stensil sebelum dimasukkan ke dalam *autoclave*. Alat-alat yang belum digunakan disimpan dalam oven pada suhu 70°C sampai saat digunakan untuk mencegah agar tidak terjadi kontaminasi. *LAFC* disterilkan dengan menyemprot alkohol 70%, kemudian menyalakan sinar UV selama 30 menit setiap akan digunakan sebelum melakukan penanaman.

3.4.2 Pembuatan Media

Media yang akan digunakan yaitu Media B5 + 1 mg Kinetin. Pembuatan satu liter media dapat dilakukan dengan memipet larutan stok yang tersedia di labor dan ditambahkan sukrosa 30 g/l. Selanjutnya pH media diukur sampai 5,8 dengan menggunakan pH meter. pH diukur dengan menambahkan beberapa tetes NaOH 0,1 N apabila pH kurang dari 5,8 dan menambahkan HCl 0,1 N apabila pH lebih dari 5,8 kemudian agar pematat ditambahkan sebanyak 7 g/l ke dalam media dan dimasak sampai berwarna bening. Selanjutnya media langsung dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 15 ml/botol, kemudian ditutup dengan plastik. Media yang sudah dimasukkan ke dalam botol, disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada tekanan 15 psi dan suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.3. Penyerbukan dan Eksplan yang Digunakan

Penyerbukan bunga mangga dilakukan pada pagi hari sebelum pukul 09.00 WIB. Bunga hermaphrodit yang reseptif pada satu malai dipilih, kemudian polen dioleskan pada ujung stigma. Ciri-ciri bunga reseptif diantaranya adalah warna mahkota yang cerah dan stigma yang berlendir. Anshari (1995) cit Suwarno (2008) menyatakan bahwa bunga mangga terbuka pada pagi hari, kepala putik segera reseptif. Bunga yang telah diserbuki tadi ditandai dengan mengikat benang pada tangkai bunganya. Selanjutnya bunga ini akan berkembang menjadi *fruit set* yang akan dijadikan eksplan sesuai perlakuan hari setelah penyerbukan yang ditentukan.

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *fruit set* dengan berbagai umur. Umur *fruit set* yang digunakan diantaranya, yaitu 10, 15, 20, 25 dan 30 hari setelah penyerbukan. Karena jumlah *fruit set* yang diperoleh sangat

sedikit, maka umur eksplan yang digunakan berikutnya adalah 3, 6, 9 dan 12 hari setelah penyerbukan. Setelah eksplan diperoleh, sterilisasi dilakukan dengan mencuci bersih *fruit set* pada air mengalir selama 5 menit. Tahapan sterilisasi berikutnya dilakukan di *L AFC* dengan membakar permukaan eksplan di atas lampu spritus.

3.4.4 Penanaman Eksplan

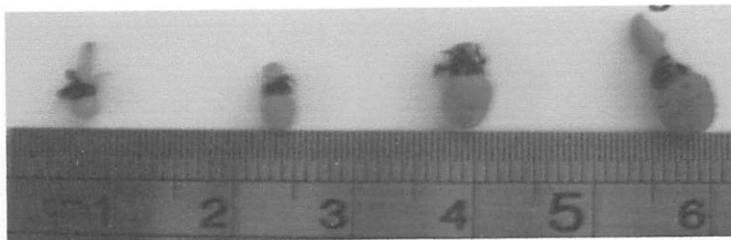
Penanaman dilakukan di *L AFC* yang sudah disterilkan. Botol-botol kultur, alat-alat tanam, lampu spritus dan peralatan lainnya sebelum dimasukkan ke *L AFC* terlebih dahulu disemprot dengan alkohol 70%. Penanaman dilakukan di dekat lampu spritus. Ada empat alternatif penanaman dilakukan dalam penelitian ini, yaitu:

1. Penanaman *Fruit Set* Muda

Umur eksplan yang digunakan adalah 3, 6, 9 dan 12 hari setelah penyerbukan. *Fruit set* yang sudah diperoleh, dipisahkan menurut perlakuan hari. Setelah melalui tahap sterilisasi, *fruit set* ini langsung ditanam. Penanaman dilakukan tanpa melukai *fruit set*. Ukuran *fruit set* dapat dilihat pada Gambar 2.

2. Penanaman Embrio Muda

Setelah melalui tahap sterilisasi, pada saat penanaman *fruit set* dibelah dengan hati-hati untuk memperoleh embrio di dalamnya. Kemudian embrio segera diisolasi ke media kultur. Ukuran *fruit set* sama dengan penanaman *fruit set* muda.



Gambar 2. Ukuran *fruit set* yang digunakan pada penanaman *fruit set* muda dan penanaman embrio muda

3. Penanaman Berdasarkan Ukuran *Fruit Set*

Perkiraan umur eksplan yang digunakan adalah 1, 2, 3 dan 4 minggu setelah penyerbukan. Pada teknis pelaksanaan pengkulturan, *fruit set* dibelah selanjutnya bagian dalam buah dikulturkan. Bagian dalam ini merupakan biji mangga yang ditutupi kulit pembungkus biji. Ukuran *fruit set* yang digunakan adalah 1, 2, 3 dan 4 cm, dapat dilihat pada Gambar 3.

4. Penanaman Embrio

Pada teknis pelaksanaan pengkulturan, *fruit set* dibelah kemudian bagian dalamnya diambil. Bagian dalam ini merupakan biji mangga yang masih tertutup oleh kulit pembungkus biji. Sehingga pada penanaman, kulit pembungkus tersebut dibuang kemudian embrio langsung diisolasi ke media. Ukuran eksplan yang digunakan sama dengan pada waktu penanaman berdasarkan ukuran *fruit set*.



Gambar 3. Ukuran *fruit set* yang digunakan pada penanaman berdasarkan ukuran *fruit set* dan penanaman embrio

3.4.5 Inkubasi di Ruang Gelap

Setelah pengkulturan, botol-botol kultur diinkubasi di ruangan gelap selama 14 hari. Tujuan dari inkubasi ini adalah untuk mengurangi tingkat *browning* akibat senyawa fenolik yang dihasilkan eksplan. Mangga diketahui memiliki tingkat senyawa fenolik yang sangat tinggi.

3.4.6 Pemeliharaan

Pemeliharaan meliputi menjaga kebersihan ruang kultur, seperti membersihkan rak kultur sebelum botol-botol kultur diletakkan, pemisahan media yang terkontaminasi. Penyemprotan ruang kultur dan botol-botol kultur dilakukan setiap hari dengan alkohol 70% untuk mencegah perkembangan mikro organisme

penyebab kontaminasi, serta penyinaran dengan intensitas cahaya lampu rata-rata 1500 lux dan suhu ruang inkubasi rata-rata antara 20-25°C.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Persentase Keberhasilan Penyerbukan

Persentase keberhasilan penyerbukan dihitung pada awal persiapan eksplan yang akan ditanam, dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase keberhasilan penyerbukan (\%)} = \frac{\sum \text{fruit set}}{\sum \text{bunga yang diserbuki}}$$

3.5.2 Persentase Keberhasilan Isolasi Embrio

Persentase keberhasilan isolasi embrio dihitung pada akhir pengamatan, yaitu delapan minggu setelah pengkulturan, dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase keberhasilan isolasi embrio (\%)} = \frac{\sum \text{embrio yang hidup}}{\sum \text{embrio yang diisolasi}}$$

3.5.3 Perkembangan Embrio

Pengamatan dilakukan secara visual terhadap perkembangan embrio dari awal penanaman sampai delapan minggu setelah tanam. Pengamatan dilakukan setiap hari. Pengamatan ini nantinya akan menjelaskan perkembangan embrio serta variasi-variasi yang muncul dari perkembangan embrio tersebut, sehingga pada akhir pengamatan diperoleh informasi bahwa pada umur sekian hari setelah penyerbukan bunga, embrio sudah mulai diselamatkan.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Persentase Keberhasilan Penyerbukan

Persentase keberhasilan penyerbukan pada bunga mangga sangat rendah, sehingga *fruit set* (pentil) yang akan dijadikan eksplan diperoleh dalam jumlah yang sangat sedikit (Tabel 1). Hal ini disebabkan oleh tingginya tingkat keguguran pada bunga mangga. Salah satu faktor keguguran ini adalah curah hujan yang tinggi dan serangan penyakit pada *fruit set*.

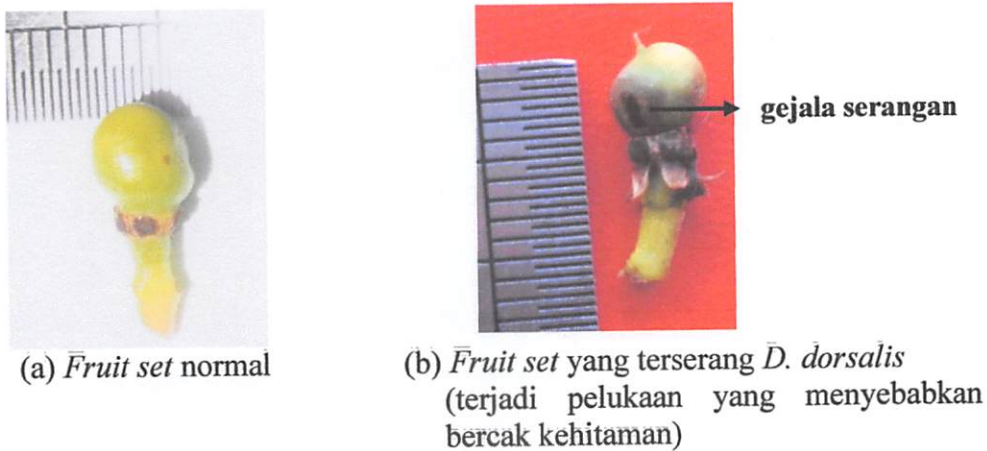
Tabel 1. Persentase keberhasilan pembentukan *fruit set* mangga Kelapa (Daerah: Perumahan Gadut)

Umur <i>fruit set</i> (hari setelah penyerbukan)	Jumlah bunga yang diserbuki	Jumlah <i>fruit set</i>	% keberhasilan pembentukan <i>fruit set</i>
10	50	8	16%
15	50	5	10%
20	50	0	0%
25	50	0	0%
30	50	0	0%

Ihsan dan Sukarmin (2008) menyilangkan 706 bunga, tetapi buah mangga silangan yang dapat dipanen sebanyak 56 saja pada umur 2 minggu setelah persilangan. Ada beberapa penyebab dari gugurnya *fruit set* yang akan dijadikan eksplan ini diantaranya adalah pengaruh lingkungan, seperti hujan dan serangan penyakit. Purnomo (1987) *cit* Tegopati, Prahardini dan Purnomo (1991); Ishartati dan Husen (2007); Sawke, Ramtake dan Deshmukh (1990) *cit* Krishna dan Singh (2007) menyatakan bahwa gugurnya *fruit set* setelah terjadinya penyerbukan disebabkan oleh faktor iklim seperti temperatur tinggi, hujan selama pembungaan, hujan disertai angin, angin kencang ataupun serangan hama dan penyakit. Sementara itu penelitian dari BPPIPT (2000) menyatakan bahwa tanaman mangga cocok hidup di daerah yang memiliki musim kering selama tiga bulan. Masa kering diperlukan sebelum dan sewaktu berbunga. Jika ditanam di daerah basah,

tanaman mengalami banyak serangan hama dan penyakit serta gugur bunga dan buah jika bunga muncul pada saat hujan.

Disampaikan Sarwono, Rosmahani dan Imah (1990) bahwa *Dacus dorsalis* yang termasuk ordo Diptera dari famili *Tephritidae* merupakan hama yang paling banyak menyerang mangga, di samping sebagian kecil juga ada yang terserang ulat penggerek buah dan antraknosa. Serangan *D. dorsalis* (Gambar 4) ini mengakibatkan buah matang sebelum waktunya, busuk dan akhirnya gugur.



Gambar 4. Serangan *D. dorsalis* pada *fruit set*

Dari permasalahan di atas, untuk mendapatkan *fruit set* mangga yang lebih banyak, maka *fruit set* yang dijadikan eksplan berikutnya adalah umur buah yang lebih muda dari perlakuan sebelumnya, yaitu 3, 6, 9 dan 12 hari setelah penyerbukan. Jenis mangga yang digunakan sebagai eksplan di sini adalah mangga Arumanis, mangga Apel dan mangga Indramayu. Persentase keberhasilan penyerbukan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase bunga yang membentuk *fruit set* cukup tinggi, sehingga *fruit set* yang diperoleh cukup banyak untuk dijadikan eksplan. Umur *fruit set* yang lebih muda, tingkat kegugurannya masih rendah.

Tabel 2. Pembentukan *fruit set*

Jenis mangga	Pembentukan <i>fruit set</i> pada hari... setelah penyerbukan											
	3			6			9			12		
	Σ bunga diserbuki	Σ <i>fruit set</i>	% bunga membentuk <i>fruit set</i>	Σ bunga diserbuki	Σ <i>fruit set</i>	% bunga membentuk <i>fruit set</i>	Σ bunga diserbuki	Σ <i>fruit set</i>	% bunga membentuk <i>fruit set</i>	Σ bunga diserbuki	Σ <i>fruit set</i>	% bunga membentuk <i>fruit set</i>
Arumanis	14	13	92,8	18	14	77,8	18	10	55,5	25	4	16,0
Apel	15	15	100	12	9	75,0	19	7	36,8	26	3	11,5
Indramayu	10	9	90,0	12	7	58,3	23	11	47,8	21	4	19,0

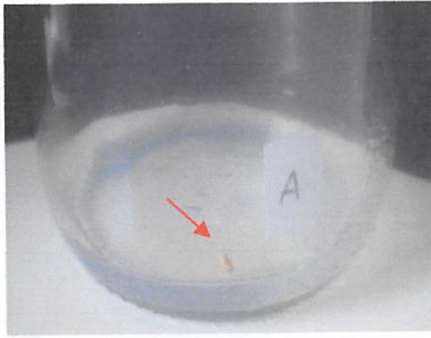
Ket. Daerah pengambilan eksplan: Tunggul Hitam (mangga Arumanis), Fakultas Peternakan dan MIPA Unand (mangga Apel) dan Kapalo Koto (mangga Indramayu).

4.2 Persentase Keberhasilan Isolasi Embrio

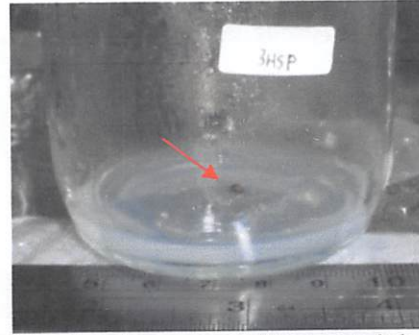
Di antara perlakuan hari tersebut, tingkat keberhasilan isolasi embrio mangga tidak menunjukkan hasil. Semua eksplan mengalami *browning*. Usaha untuk mengurangi *browning* ini telah dilakukan dengan menginkubasi embrio yang sudah ditanam pada ruangan gelap selama 2 minggu. Selanjutnya, beberapa alternatif penanaman dilakukan untuk memperoleh embrio yang mampu hidup dan berkembang.

4.2.1 Penanaman *Fruit Set* Muda

Penanaman dilakukan tanpa melukai *fruit set*. Hal ini dilakukan sebagai pertimbangan bahwa eksplan yang terlalu muda akan sulit untuk beradaptasi pada lingkungan baru. Sehingga disini diharapkan embrio di dalamnya mampu hidup dan berkembang dengan baik di dalam *fruit set* tersebut. Akan tetapi, eksplan tersebut mati. Respon yang ditunjukkan oleh eksplan terlihat sejak 4 hari setelah pengkulturan, dimana eksplan mulai berubah warna menjadi kecoklatan dan tidak terkontaminasi organisme, dapat dilihat pada Gambar 5.



(a) Eksplan berwarna putih kehijauan ketika dikulturkan



(b) Eksplan berwarna hitam setelah 2 minggu pengkulturan

Gambar 5. Perkembangan eksplan yang berasal dari *fruit set* muda

4.2.2 Penanaman Embrio Muda

Alternatif langkah penelitian selanjutnya adalah menggunakan *fruit set* pada umur yang sama dengan penanaman *fruit set* muda, yaitu 3, 6, 9 dan 12 hari setelah penyerbukan. Pada alternatif ini, embrio tidak menunjukkan perkembangan yang berarti. Respon yang ditunjukkan embrio terlihat sejak satu minggu setelah pengkulturan, dimana eksplan berubah warna menjadi kecoklatan dan akhirnya menjadi hitam. Hal ini dikarenakan bahwa umur embrio yang terlalu muda belum mampu menyesuaikan diri pada lingkungan buatan, meskipun lingkungan tersebut sudah dikondisikan secara optimal. Media yang dipakai pada penelitian ini adalah media B5 dengan penambahan 1 mg Kinetin. Karsinah *et al.*, 2007 melaporkan bahwa media ini merupakan media terbaik untuk perkembangan embrio zigotik hasil persilangan mangga Arumanis 143 dengan Cukurgondang, yang persentase keberhasilannya mencapai 90%.

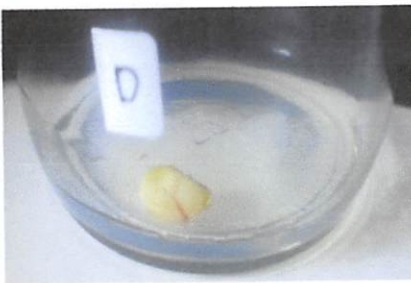
George dan Sherrington (1984); Gunawan (1988) menyatakan bahwa kultur *immature embryo* juga membutuhkan media yang lebih kompleks. Semakin kecil embrio yang digunakan, semakin diperlukan keterampilan untuk mengisolasinya. Kemudian Poehlman dan Sleeper (1995) menambahkan bahwa media *in vitro* dengan nutrisi yang tepat dan kondisi yang aseptik diperlukan untuk perkembangan embrio muda. Pada embrio yang sangat muda, pertumbuhan dan perkembangannya masih jauh lebih rentan dibandingkan embrio yang dewasa. Hal ini didukung oleh pernyataan Kamil (1979) yang menyatakan bahwa pada

embrio yang sangat muda, sel-selnya hampir sama bentuk dan ukurannya dan belum terdapat diferensiasi organ seperti pada embrio dewasa.

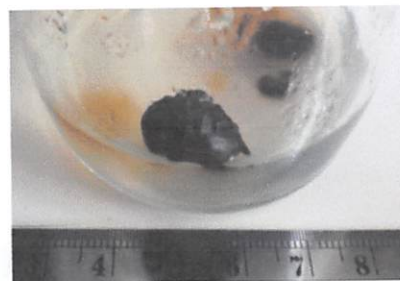
4.2.3 Penanaman Berdasarkan Ukuran *Fruit Set*

Alternatif berikutnya adalah menggunakan eksplan dengan perbedaan ukuran *fruit set* yaitu umur 1, 2, 3 dan 4 minggu setelah penyerbukan (MSP). Jenis mangga yang digunakan adalah mangga Apel, Ambacang dan Kweni. Alternatif langkah ini juga tidak menunjukkan perkembangan embrio. Respon yang ditunjukkan eksplan terlihat sejak hari pertama setelah pengkulturan, dimana eksplan mengeluarkan senyawa fenolik, terlihat pada media di sekitar eksplan berwarna kecoklatan, kemudian pada hari ke-7 warna eksplan menjadi coklat, dapat dilihat pada Gambar 6. Kulit biji menjadi keras dan ini merupakan penghalang bagi embrio untuk tumbuh. Pada akhir pengamatan, ukuran eksplan terlihat lebih besar, tetapi tidak menunjukkan perkembangan embrio di dalamnya.

Bewley dan Black (1983) *cit* Ardian (2008) menjelaskan bahwa benih yang mempunyai struktur kulit yang keras dapat mengganggu penyerapan air dan pertukaran gas. Perkecambahan tidak dapat terjadi jika benih tidak dapat menyerap air. Kemudian Ardian (2008) melaporkan apabila dinding sel kulit biji dan embrio menyerap air, maka suplai Oksigen meningkat kepada sel-sel hidup sehingga memungkinkan lebih aktifnya pernafasan.



(a) Eksplan berwarna putih kehijauan pada awal pengkulturan



(b) Eksplan berubah warna menjadi coklat kehitaman pada minggu ke-4 setelah pengkulturan

Gambar 6. Perubahan warna pada eksplan

4.2.4 Penanaman Embrio

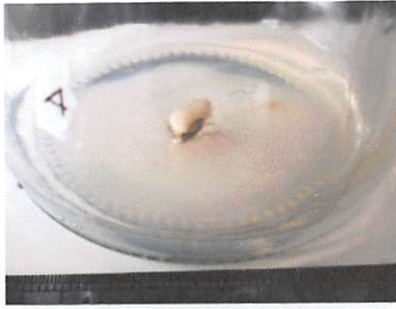
Ketiga alternatif langkah penelitian di atas belum menunjukkan tingkat keberhasilan. Alternatif langkah penelitian berikutnya adalah penanaman embrio berdasarkan ukuran yang sama dengan penanaman berdasarkan ukuran *fruit set*, dengan umur 1, 2, 3 dan 4 minggu setelah penyerbukan. Jenis mangga yang digunakan pada langkah ini adalah Kweni, Ambacang dan mangga Apel. Akan tetapi, pada tahap perkembangan embrio, eksplan Ambacang dan mangga Apel terkontaminasi oleh jamur. Kontaminasi ini terjadi pada minggu kedua dan minggu ketiga setelah pengkulturan. Krishna dan Singh (2007) melaporkan bahwa dalam kultur jaringan, mangga dikenal rentan terhadap *latent systemic contamination*, yang berarti bahwa kontaminasi akan muncul pada beberapa hari atau minggu setelah penanaman. Beberapa jamur penyebab kontaminasi ini diantaranya adalah *Alternaria alternate*, *Colletotrichum spp.*, *Dothiorella spp.* dan *Fusarium subglutinans*. Persentase keberhasilan isolasi embrio pada penanaman embrio ini disajikan pada Tabel 3. Embrio ini mampu bertahan hingga minggu ke-8 setelah pengkulturan.

Tabel 3. Keberhasilan isolasi embrio

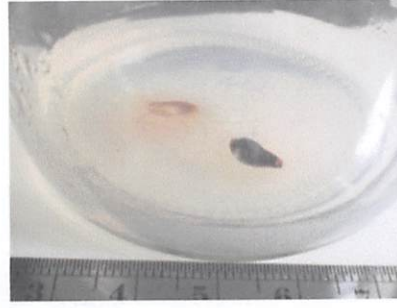
Jenis mangga	Umur <i>fruit set</i> (minggu)											
	1			2			3			4		
	Σ embrio diisolasi	Σ embrio hidup	%keberhasilan isolasi	Σ embrio diisolasi	Σ embrio hidup	%keberhasilan isolasi	Σ embrio diisolasi	Σ embrio hidup	%keberhasilan isolasi	Σ embrio diisolasi	Σ embrio hidup	%keberhasilan isolasi
Kweni	12	0	0	8	0	0	6	6	100	7	6	85,7
Ambacang	21	0	0	13	0	0	10	0	0	9	0	0
Apel	27	0	0	12	0	0	16	0	0	13	0	0

Ket. Daerah pengambilan eksplan: Pasar Baru (Kweni), Kapalo Koto (Ambacang) dan Pariaman (mangga Apel).

Keberhasilan dalam isolasi embrio ini masih tergolong sangat rendah. Perlakuan 1 MSP dan 2 MSP pada Kweni menunjukkan bahwa embrio belum mampu hidup pada umur yang sangat muda. Embrio tersebut mati dan tidak terkontaminasi organisme pada tahap perkembangannya, dapat dilihat pada Gambar 7.



(a) Kondisi awal eksplan Kweni pada 1 MSP

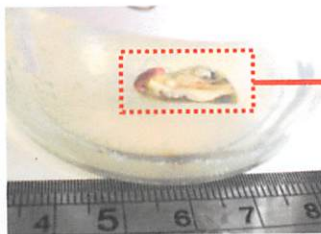


(b) Kondisi eksplan mati dan tidak terkontaminasi pada 8 minggu setelah penanaman

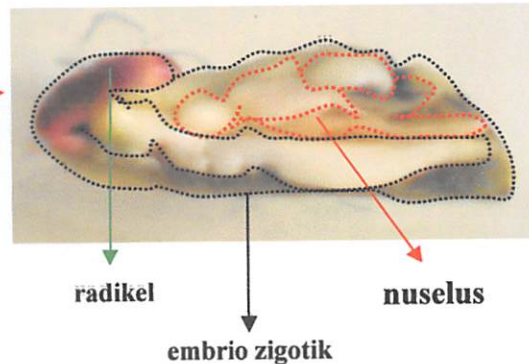
Gambar 7. Perubahan kondisi eksplan pada penanaman embrio

4.3 Poliembrioni

Pada awal pengkulturan, diketahui bahwa ketiga jenis mangga tersebut bersifat poliembriani. Purnomo (1992) menyatakan bahwa kebanyakan mangga di Indonesia bersifat poliembriani, dapat dilihat pada Gambar 8. Ditambahkan Brummitt (2008) bahwa biji poliembriani mengandung banyak embrio. Poliembriani ini mengandung satu embrio zigotik dan beberapa embrio yang terbentuk dari nuselus yang secara genetik adalah sama dengan induknya.



(a) poliembriani



(b) bagian-bagian poliembriani

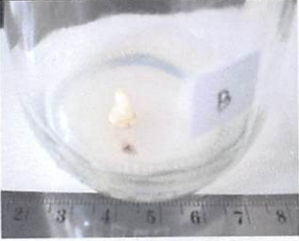
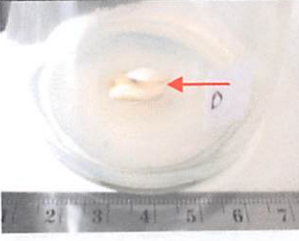

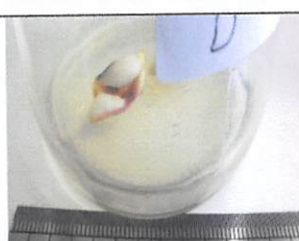


Gambar 8. Struktur embrio mangga yang bersifat poliembriani

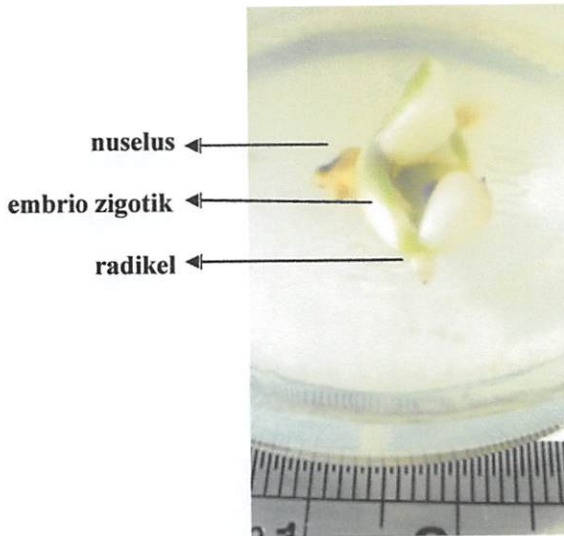
4.3.1 Perkembangan Embrio

Tahap perkembangan embrio dimulai dari pecahnya poliembrio pada minggu pertama pengkulturan. Pecah poliembrio ditandai dengan membukanya lembaran-lembaran nuselus dari bagian biji. Selanjutnya pada minggu kedua mulai terlihat pemanjangan radikel. Pada minggu ketiga, bagian-bagian nuselus ini mulai membentuk klorofil, dimana warna kehijauan terlihat pada eksplan. Pada minggu berikutnya hingga akhir pengamatan (8 minggu setelah pengkulturan), embrio tidak lagi menunjukkan perkembangan yang berarti. Tahap perkembangan embrio disajikan pada Tabel 4. Husen (2005) meneliti pengaruh pemberian jenis dan konsentrasi Sitokinin pada induksi embrio somatik mangga dan menyarankan perlu dilakukan penelitian embrio somatik secara langsung dengan pemberian BAP 2,2 ppm dengan waktu pengamatan yang lebih panjang karena pertumbuhan embrio mangga yang sangat lambat.

Media kompleks sangat dibutuhkan untuk perkembangan embrio muda. Pada beberapa jenis tanaman, embrionya membutuhkan sukrosa 8-12% atau *osmoticum* seperti Manitol (Gunawan, 1988). Semakin muda embrio, maka semakin kompleks persyaratan tumbuhnya. Sebaliknya semakin tua embrio semakin mudah persyaratan tumbuhnya (Monnier, 1990 *cit* Yuriko, (2001). Media MS dengan penambahan 9 mg IBA, 3 mg Kinetin, 400 mg Glutamin, 500 mg arang aktif dan 60 g sukrosa berhasil meregenerasi embrio *immature* menjadi planlet sebanyak 72% (Chandra, Padaria, Singh dan Pal, 2003 *cit* Krishna dan Singh, 2007). Sedangkan media B5 dengan penambahan 1 mg Kinetin yang dipakai pada penelitian ini, merupakan media terbaik untuk perkembangan embrio zigotik hasil persilangan mangga Arumanis 143 dengan Cukurgondang, yang tingkat keberhasilannya mencapai 90%.

Tabel 4. Perkembangan embrio dari awal pengkulturan hingga 8 minggu setelah pengkulturan

Perkembangan Embrio	Keterangan
	Pada hari pertama pengkulturan embrio terlihat berwarna putih.
	Pada minggu pertama poliembrio pecah.
	Pada minggu kedua radikel mulai memanjang.
	Pada minggu ketiga merupakan tahap awal pembentukan klorofil.
	Pada minggu keempat terlihat warna kehijauan pada eksplan.
	Pada minggu kelima hingga kedelapan terlihat radikel memanjang dan warna hijau terlihat jelas pada eksplan.



Gambar 9. Embrio 4 MSP pada minggu ke- 8 pengkulturan

Pada akhir pengamatan (8 minggu setelah pengkulturan), dapat dilihat pada Gambar 9 bahwa embrio zigotik mampu hidup dan nuselusnya tidak berkembang (mati). Radikel yang muncul merupakan hasil dari proses pertumbuhan yang terjadi, disebabkan oleh pembelahan sel dari embrio tersebut. Kamil (1979) menyatakan bahwa selama proses pertumbuhan pada embrio yang sangat muda, belum terdapat diferensiasi organ seperti pada tumbuhan dewasa, bentuk dan ukuran sel-sel hampir sama. Sel-sel ini kemudian membelah diri berulang kali, ukuran sel bertambah besar dan setelah beberapa waktu, maka akan terlihat organ-organ permulaan yang belum sempurna seperti akar, batang dan daun.

Pertumbuhan planlet yang lambat dalam kultur embrio mangga ini merupakan konsekuensi dari kondisi lingkungan kultur dan mudanya umur embrio yang digunakan. Yuriko (2001) menyatakan kondisi lingkungan kultur embrio tertutup membatasi ketersediaan udara, terutama O_2 yang merupakan syarat mutlak dari perkembangan embrio ini. Kemudian disampaikan oleh Nathang (1999) *cit* Krishna dan Singh (2007) bahwa teknik regenerasi *in vitro* menggunakan *fruit set* dengan umur 35-45 hari setelah polinasi menunjukkan peningkatan efisiensi pada pemuliaan mangga.

Sahijram, Bollamma, Naren, Soneji, Dinesh dan Halesh (2005) *cit* Krishna dan Singh (2007) menyarankan menggunakan *fruit set* dengan umur 6-8 minggu setelah polinasi untuk kultur embrio mangga dengan menggunakan media setengah MS semi-solid yang mengandung 1,25 g *Casein Hydrolysate* dan 4,5% sukrosa.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa penentuan umur embrio termuda pada mangga untuk diselamatkan secara *in vitro* belum dapat ditentukan secara pasti. Hal ini dikarenakan bahwa ukuran eksplan yang dipakai serta perkiraan umur embrio itu sendiri masih belum bisa dipastikan. *Fruit set* dengan umur sekitar 3-4 minggu setelah penyerbukan telah memiliki umur yang cukup dewasa untuk diselamatkan secara *in vitro* pada media B5 dengan penambahan 1 mg Kinetin.

4.2 Saran

Penulis menyarankan ada penelitian lebih lanjut dengan menggunakan umur embrio mangga yang lebih muda serta komposisi media kultur yang digunakan lebih sesuai nutrisinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardian. 2008. Pengaruh perlakuan suhu dan waktu pemanasan benih terhadap perkecambahan kopi Arabika (*Coffea arabica*). *Jurnal Akta Agrosia* 11(1):25-33.
- Bally, Ian. 2006. *Mangifera indica* (Mango). <http://www.traditionaltree.org/extension.html>. [4 April 2010].
- Baswarsiati dan Yuniarti. 2007. Karakter morfologis dan beberapa keunggulan mangga Podang Urang (*Mangifera indica* L.). *Buletin Plasma Nutfah* 13(2):62-69.
- [BPPIPT] Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. 2000. Mangga (*Mangifera* sp.). Jakarta. 13 hal.
- Brummitt, R.K. 2008. *Mangifera indica* L. <http://culturesheet.org/anacardiaceae:mangifera:indica> [2 Agustus 2010].
- Bustamam, T., N. Rozen, dan K. Kurniawan. 2004. Pengaruh konsentrasi NAA dan BAP terhadap kultur embrio pinang sirih (*Areca catechu*) secara *in vitro*. *Stigma* 7(2):209-213.
- Chin, H.F., B. Krishnapillay, dan Z.C. Alang. 1988. Media for embryo culture of some tropical recalcitrant species. *Pertanika* 11(3):357-363.
- Fitrianti, A. 2006. Efektivitas Asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan Kinetin Pada Medium MS dalam Induksi Kalus Sambiloto dengan Eksplan Potongan Daun. [Skripsi]. Semarang. Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang. 76 hal.
- George, E.F. dan Sherrington, P.D. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Handbook and directory of commercial laboratories. Exegetics Ltd. Basingstoke, England.
- Gunawan, L.W. 1987. *Teknik Kultur Jaringan*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hakim, Lukmanul. 2010. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Keberhasilan Kultur Jaringan. <http://bloginvitro.blogspot.com/2009/12/faktor-faktor-yang-mepengaruhi.html> [12 Oktober 2010].
- Hendaryono, D.P.S. dan Wijayani, A. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

- Husen, S. 2005. Induksi Embriogenesis Somatik Mangga (*Mangifera indica* L.) secara Langsung dengan Pemberian Jenis dan Konsentrasi Sitokinin. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- _____. 2008. Perkecambahan embrio mangga secara *in vitro* dengan penambahan sukrosa dan Benzil Amino Purin [abstrak]. http://jatim.litbang.deptan.go.id/index.php?option=com_artbannersplus&task=clk&id=10 [1 Juli 2009].
- Ihsan, F. dan Sukarmin. 2008. Teknik persilangan mangga (*Mangifera indica*) untuk perakitan varietas unggul baru. *Buletin Teknik Pertanian* 13(1):33-36.
- Ilyas, S. 2005. Kultur embrio sebagai *Embryo Rescue* pada tanaman kedelai. *Jurnal Komunikasi Pertanian* 17(6):44-51.
- Ishartati, E. dan S. Husen. 2007. Induksi pembungaan, kompatibilitas dan karakterisasi semai hibrida persilangan antar-kultivar mangga (*Mangifera indica* L.). *Akta Agrosia* 1:77-85.
- Jamsari. 2008. *Pengantar Pemuliaan Landasan Genetis, Biologis, dan Molekuler*. Pekanbaru. Unri Press. 232 hal.
- Kamil, J. 1979. *Teknologi Benih 1*. Padang. Angkasa Raya. 227 hal.
- Karsinah, Triatminingsih, dan Rebin. 2007. Kultur penyelamatan embrio persilangan mangga Arumanis 143 dengan klon merah Cukurgondang dan Arumanis 143 [abstrak]. <http://www.asiajol.info/index.php/record/view/3202> [1 Juli 2009].
- Kosmiatin, M. dan I. Mariska. 2005. Kultur embrio dan penggandaan kromosom hasil persilangan kacang hijau dan kacang hitam. *Jurnal Bioteknologi Pertanian* 10(1):24-34.
- Krishna, H. dan S.K. Singh. 2007. Biotechnological advances in mango (*Mangifera indica* L.) and their future implication in crop improvement-A review. *Biotechnology Advances* 25:223-243.
- Matthys-Rochon, E., F. Piola, E. Le Deunff, R. Mó dan C. Dumas. *In vitro* development of maize immature embryos: A tool for embryogenesis analysis. *Journal of Experimental Botany* 49(322):839-845.
- Muslim, A. 2010. Kultur embrio dan penyelamatan embrio (*Embryo Culture and Embryo Rescue*). <http://bloginvitro.blogspot.com> [13 Oktober 2010].
- Poehlman, J.M. dan D.A. Sleeper. 1995. *Breeding Field Crops* Edition 4th. Iowa State University Press.

- Purnomo, S. 1992. Pemuliaan Mangga. Hal 107-131. Di dalam: Pemuliaan Tanaman Menunjang Pembangunan Pertanian Berkelanjutan. Prosiding Simposium Pemuliaan Tanaman I; Malang 27-28 Agustus 1991. Malang. Perhimpunan Pemulia Tanaman Indonesia.
- Saidah, H. 2005. Pengaruh konsentrasi Sukrosa dan Kinetin terhadap kultur embrio mangga (*Mangifera indica* L.) secara *in vitro* [abstrak]. <http://digilib.umm.ac.id/go.php?id=jiptummpg-gdl-s1-2005-halimatuss-2069> [19 Juli 2009].
- Sarwono, L. Rosmahani, dan N. Imah. 1990. Distribusi dan tingkat serangan lalat buah (*Dacus dorsalis* Complex) di beberapa sentra produksi mangga di Jawa Timur dan Bali. *Penelitian Hortikultura* 5(1):79-84.
- Suwarno, W.B. 2008. Pemuliaan Tanaman Mangga. <http://www.fp.unud.ac.id/biotek/wp-content/uploads/2009/02/pemuliaan-mangga.pdf> [2 Juli 2009].
- Tegopati, B., P.E.R. Prahardini, S. Purnomo. 1991. Pengaruh NAA, GA₃, Kinetin dan Promalin terhadap pembentukan pentil buah dan hasil mangga (*Mangifera indica* L.) *Jurnal Hortikultura* 1(3):57-63.
- [Unud] Universitas Udayana. 2008. Metode Pemuliaan dengan Kultur Jaringan. Bali.
- Wattimena, G. A. 1988. *Zat Pengatur Tumbuh Tanaman*. PAU IPB. Bogor.
- Yuriko, Harry. 2001. Kultur embrio pinang sirih (*Areca cathecu*) secara *in vitro* pada beberapa tingkat kematangan buah. [Skripsi]. Padang. Fakultas Pertanian Universitas Andalas. 48 hal.
- Zarkasi, E. M. 2005. Pengaruh konsentrasi air kelapa dan Casein Hydrolisat terhadap pertumbuhan embrio mangga (*Mangifera indica* L.) untuk penyelamatan embrio dalam kultur embrio [abstrak]. <http://digilib.umm.ac.id/go.php?node=2828> [1 Juli 2009].

Lampiran 1. Jadwal Kegiatan dari bulan Maret Sampai Juni 2010

No.	Kegiatan	Minggu													
		ke -													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1.	Persiapan alat dan bahan														
2.	Sterilisasi alat														
3.	Persiapan eksplan														
4.	Pembuatan media														
5.	Penanaman														
6.	Pemeliharaan														
7.	Pengamatan														
8.	Penulisan skripsi														

Lampiran 2. Komposisi Nutrisi Media Dasar B5

Bahan Kimia	Larutan Baku (mg.l ⁻¹)	Larutan Stok (g.l ⁻¹)	Kepekatan (kali)	Kebutuhan Media/l	Kode Stok
Makro Nutrisi					
KNO ₃	2500	25.00	10	100	A
(NH ₄) ₂ SO ₄	134	1.34	10	100	B
CaCl ₂ .2H ₂ O	150	1.50	10	100	C
MgSO ₄ .7H ₂ O	250	2.50	10	100	D
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	150	1.50	10	100	D
Mikro Nutrisi					
MnSO ₄ .4H ₂ O	10	100*	100	10	E
H ₃ BO ₃	3	30*	100	10	E
ZnSO ₄ .7H ₂ O	2	20*	100	10	E
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	2.50*	100	10	F
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.25*	100	10	F
CoCl.6H ₂ O	0.025	0.25*	100	10	F
Na ₂ EDTA	37.30	7.45	200	5	G
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.80	5.57	200	5	G
Vitamin					
Myo-inositol	100	1000*	100	10	H
Thiamine	10	1000*	1000	1	I
Nicotinic Acid	1	100*	1000	1	J
Pyridoxin HCl	1	100*	1000	1	K
Sukrosa	20.00				

Sumber : George and Sherrington (1984)
pH media : 5.8
) : mg/100 ml Larutan stok